

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft I
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. med. H. D. Cremer

**Beeinflussung enzymatischer Reaktionen
und Metabolitenkonzentrationen des
Intermediärstoffwechsels
durch Alkohol und Thiaminmangel**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Ernährungswissenschaften
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Furugh Azam Taleban
aus Schiraz (Iran)

Gießen 1972

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft I
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. med. H. D. Cremer

**Beeinflussung enzymatischer Reaktionen
und Metabolitenkonzentrationen des
Intermediärstoffwechsels
durch Alkohol und Thiaminmangel**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Ernährungswissenschaften
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Furugh Azam Taleban
aus Schiraz (Iran)

Gießen 1972



Dekan des Fachbereiches: Prof. Dr. H. Linser
1. Berichterstatter: Prof. Dr. H.D. Cremer
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Brune

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juli 1972

Gedruckt mit Unterstützung des
Deutschen Akademischen Austauschdienstes

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
3. Material und Methode	11
3.1. Versuchstiere und Tierhaltung	11
3.2. Versuchsanordnung	11
3.3. Zusammensetzung der Versuchskost	12
3.4. Zusammensetzung der Vitamin- mischung	13
3.5. Organgewinnung, Hämolysat- und Homogenatherstellung	14
3.6. Bestimmungsmethoden	15
4. Ergebnisse	16
4.1. Einfluß einer einmaligen Dosis Alkohol	16
4.2. Einfluß einer 15-wöchigen Gabe von Alkohol im Trinkwasser (16 %)	18
4.3. Einfluß einer 15-wöchigen Gabe von Alkohol im Trinkwasser (20 %) mit zusätzlicher Schlundsondierung (2 g/kg K.-Gew./Tag)	21
4.4. Einfluß einer 5-wöchigen Gabe von Alkohol im Trinkwasser (20 - 30 %) mit zusätzlicher Schlund- sondierung (3 g/kg K.-Gew./Tag)	26
5. Diskussion	30
6. Zusammenfassung	37
7. Enzymnomenklatur und Kennziffern	39
8. Literaturverzeichnis	40
9. Bildanhang	46

1. EINLEITUNG

Bekanntlich beobachtet man bei chronischen Alkoholikern häufig Anzeichen eines Thiaminmangels (FENNELY, 1964, KERSHAW, 1967). Dabei wird immer wieder die Frage diskutiert, ob der beobachtete Thiaminmangel durch unzureichende Nahrungszufuhr hervorgerufen wird, oder aber ob Alkohol in der Lage ist, durch Reaktionen im Intermediärstoffwechsel einen Thiaminmangel zu erzeugen, oder die intestinale Thiaminresorption zu beeinflussen.

Weiterhin ist bekannt, daß Thiamin eine beschränkte Zeit vor den toxischen Effekten eines Alkoholkonsums schützen kann (KIECKEBUSCH, 1961). In hoher Dosierung bis zur toxischen Grenzdosis von 1 g/kg K.-Gew. hebt Thiamin die Alkoholtoxizität auf. Der Mechanismus auf dem diese antagonistische Wirkung beruht, ist noch unbekannt (JAULMES et al., 1959). Außerdem wird häufig über Versuche berichtet, bei denen man durch ausreichende Nährstoff- und Vitamingabe (insbesondere an Thiamin) die alkoholische Polyneuritis innerhalb von einigen Wochen mit Erfolg bekämpfte, obwohl die Versuchspersonen ihre übliche Menge an Branntwein und Spirituosen zu sich nahmen (FLAIG, 1939). Die Autoren bezeichnen Thiamin als Gegengift zu Alkohol.

Daß Thiamin beim Stoffwechsel des Alkohols eine Rolle spielen muß, wurde schon 1942 von WESTERFIELD et al. vermutet. Sie stellten aufgrund ihrer experimentellen Ergebnisse die Hypothese auf, daß der durch Oxidation von Alkohol entstandene Acetaldehyd mit Pyruvat zu Acetoin umgesetzt wird, eine Reaktion, die durch Thiaminpyrophosphat katalysiert wird (STOTZ et al., 1944).

Für einen positiven Effekt des Thiamins gegenüber einer Alkoholintoxikation spricht auch, daß man Arrhythmien

und Herzmuskelschädigungen sowie Polyneuritis bei Alkoholikern zum Teil mit Erfolg durch Gaben von Thiamin und anderen B-Vitaminen bessern kann (LUTTEROTI, 1969, FENNELY, 1964).

Andererseits sprechen einige Untersuchungsergebnisse dafür, daß Thiaminmangel-Ratten, die 10 % Alkohol im Trinkwasser ad libitum bekamen, besser den Thiaminmangel vertrugen, als diejenige ohne Alkohol (ZIEVE et al., 1968). Eine Hypothese zur Erklärung dieses Ergebnisses geht davon aus, daß Alkohol in niederen Dosen eine Thiaminsparwirkung haben könnte.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, festzustellen, ob Interaktionen zwischen Thiamin und Alkohol im Intermediärstoffwechsel bestehen. Insbesondere wurden Enzymaktivitäten und Metabolitenkonzentrationen des Erythrocytenstoffwechsels bestimmt, da man bei Alkoholikern häufig eine hämolytische Anämie beobachtet.

Weiterhin wurde in der Leber die Aktivität des alkoholentgiftenden Enzyms Alkoholdehydrogenase ermittelt, sowie im Herzmuskel Untersuchungen zur Aktivität der Pyruvatdehydrogenase durchgeführt, da dieses Enzym als einen Cofaktor TPP enthält und da seine Aktivitätsabnahme im Herzmuskel bei Thiaminmangel zeitlich mit dem Auftreten der Herzmuskelschädigungen korreliert sein soll (McCANDLESS et al., 1970).

2. LITERATURÜBERSICHT

Der stark angestiegene Alkoholkonsum hat die Zahl der alkoholkranken Menschen erheblich vermehrt. Die Wirkung dieses an sich unphysiologischen Calorienträgers wurde seit langem an Mensch und Tier beobachtet. Sicher stellt der Umsatz des Alkohols extreme Anforderungen an die regulatorischen Mechanismen des Körpers, es ist daher nicht verwunderlich, daß anhaltende Zufuhr größerer Alkoholmengen die metabolische Kapazität überfordern und Schäden hervorrufen kann. Über die Ursachen dieser Schäden bei chronischen Alkoholikern werden verschiedene Aussagen gemacht. Einige Autoren sind der Ansicht, daß Alkohol eine direkte toxische Wirkung auf den Organismus hat, während andere dessen Abbauprodukte, Fehlernährung oder Enzymtgleisung dafür verantwortlich machen. Bei der Anamnese wird häufig von Hypovitaminosen der Alkoholkranken berichtet, dabei steht der Thiaminmangel immer im Vordergrund.

Auf der Suche nach Stoffwechselwegen, die sowohl durch Thiamin als auch durch Alkohol beeinflusst werden könnten, ergab sich aus der Literatur, daß dies möglicherweise beim Erythrocyten-Stoffwechsel der Fall sein könnte.

Der Pentosephosphat-Cyklus der Erythrocyten wird nach Untersuchungen von JAKOB et al. (1966) durch den Glutathiongehalt (oder besser den G-SH/GSSG-Quotienten) reguliert. Der Gehalt der Erythrocyten an G-SH soll durch Thiaminmangel (HSU, 1960, DRUMMOND, 1961) und durch Alkohol bzw. Acetaldehyd (ESTLER u. AMMON, 1966) vermindert werden. ESTLER und AMMON stellten durch zahlreiche Versuche fest, daß Acetaldehyd in vivo in der Lage ist, mit freien SH-Gruppen der Enzyme unter Bildung eines Thiohalbacetals

zu reagieren und dadurch die funktionellen SH-Gruppen der Enzyme zu blockieren. Die gleiche Reaktion beobachteten sie beim Glutathion, welches ebenfalls eine freie SH-Gruppe enthält.

Die wichtigste Wirkung des Glutathions beruht darauf, daß es SH-Enzyme aktiviert und vor Oxidationsprozessen schützt. Es wäre daher denkbar, daß diese Enzyme durch Glutathionabnahme eine Aktivitätsverminderung erfahren.

Eines der SH-Enzyme ist die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase, die in Erythrocyten besondere Funktion hat. Sie ist das Schlüsselenzym des oxidativen Glucoseabbaus über den Pentosephosphat-Cyklus (AEBI, 1967). Ihre Aktivität soll beim Thiaminmangel abnehmen (COLAJACOMO u. Mitarb., 1963). Außerdem enthält sie essentielle SH-Gruppen, die möglicherweise durch Alkohol bzw. Acetaldehyd blockiert werden könnten oder durch alkoholbedingte Abnahme des Glutathiongehalts nicht genügend geschützt werden.

Für das Gehirn konnte gesichert werden, daß Glucose nach in vivo Applikation von Äthanol bevorzugt über den HMP-Weg metabolisiert wird (HIGGINS, 1963). Ursache ist vermutlich die Abnahme des NAD/NADH-Quotienten, so daß nicht ausreichend NAD für Glykolyse und Citrat-Cyklus zur Verfügung steht. Dabei wäre es möglich, daß durch Alkohol die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase stimuliert wird, was nach Untersuchungen von BARON et al. (1969) in der Leber tatsächlich der Fall ist. Die Autoren stellten fest, daß eine einmalige i.P. Injektion von 3 g Alkohol/kg K.-Gew. die Dehydrogenasen des Pentosephosphat-Cyklus der Leber stimuliert, auch hier wurde auf eine alkoholbedingte Hemmung der Glykolyse hingewiesen. Ob und inwieweit die

Enzyme des Pentosephosphat-Cyklus der Erythrocyten durch Alkohol stimuliert werden und ob dies auch bei chronischen Alkoholgaben zutrifft, ist noch nicht untersucht worden.

Ein Enzym des Pentosephosphat-Cyklus ist die Transketolase, die bekanntlich ein TPP-abhängiges Enzym ist (RACKER, 1953). Sie katalysiert die Übertragung aktiven Glykolaldehyds auf geeignete Aldehyde. BRIN und Mitarb. haben 1958 und 1960 festgestellt, daß die Aktivität der Transketolase der Ratten-Erythrocyten von dem Thiamingehalt der Nahrung abhängt. Diese Abhängigkeit trifft auch für die Transketolase anderer Organe der Ratte sowie der menschlichen Erythrocyten zu und stellt eine gute Methode zur Bestimmung des Thiaminsättigungszustands eines Organismus dar (BRIN, 1962). Bei einer Unterversorgung eines Organismus nimmt die Transketolase-Aktivität, bedingt durch die Abnahme des TPP-Gehalts, sehr frühzeitig ab (BRIN, 1964, BRIN et al., 1965). Im Zusammenhang mit der Stimulierung der Dehydrogenasen des Pentosephosphat-Cyklus durch Alkohol und dem bevorzugten Stoffwechsel der Glucose über den HMP-Weg wäre zu erwarten, daß die Transketolase auch hierdurch stimuliert werden sollte, da sie ebenfalls ein Enzym des Pentosephosphat-Cyklus ist. Diese Hypothese kann durch eine Untersuchung von ZIEVE et al. (1968) gesichert werden, die eine erhöhte Aktivität der Lebertransketolase bei mit Thiamin voll- und mangelernährten Ratten, die 8 Wochen 10 % Alkohol bekamen, gegenüber den Vergleichsgruppen ohne Alkohol, feststellten. Über die Ursache der erhöhten Lebertransketolase-Aktivität der Alkohol-Gruppen machen die Autoren keine Angaben.

Dagegen soll nach Untersuchungen von TOMASI (1969) die Aktivität der Erythrocyten-Transketolase bei chronischen

Alkoholikern vermindert sein, was mit ziemlicher Sicherheit auf die Verarmung der Alkoholiker an Thiamin zurückzuführen ist.

Eine Erklärung für das unterschiedliche Verhalten der Leber- und Erythrocyten-Transketolase wird von keinen der Autoren gegeben. Dabei stellt sich allerdings die Frage, inwieweit man von den Befunden, die am Tier erhoben worden sind, auf das Geschehen im menschlichen Organismus schließen kann, wobei hier die Dauer der Alkoholaufnahme, die Zusammensetzung der Kost und sonstige Aspekte wichtige Rollen spielen.

Bekanntlich findet die Oxidation des Alkohols fast ausschließlich in der Leber unter Mitwirkung des Enzyms Alkoholdehydrogenase statt. Die Aktivität der Alkoholdehydrogenase in der Leber wurde in zahlreichen Versuchen bei akuter und chronischer Alkoholgabe untersucht (FORSANDER et al., 1965, DAJANI et al., 1963). Die Ergebnisse stimmen zum Teil nicht überein, da unter Äthanolzufuhr sowohl erniedrigte (FIGUREOA et al., 1962, GREENBERGER et al., 1965) als auch erhöhte Alkoholdehydrogenase-Aktivitäten (MIRONE, 1965, DAJANI et al., 1966, HAWKINS et al., 1966) im Leberextrakt gemessen wurden. Dies dürfte zum Teil auf unterschiedliche Versuchsbedingungen wie das Tiermaterial oder die verabreichte Alkoholmenge beruhen.

Auch Thiaminmangel scheint die Aktivität von Dehydrogenasen beeinflussen zu können. So fanden DEUS und Mitarb. (1968) eine Aktivitätserniedrigung der Isocitratdehydrogenase in Rattenleber und Rattenerythrocyten bei Thiaminmangel. GUBLER (1968) beobachtete einen deutlichen Aktivitätsabfall der Lactatdehydrogenase in der Leber durch

Thiaminmangel. Ebenfalls wurden die Aktivitäten einiger Dehydrogenasen in menschlichen Erythrocyten 1969 von BITSCH und Mitarb. unter dem einfluß von thiaminarmer Kost untersucht und dabei festgestellt, daß deren Aktivität um 10 - 40 % bezogen auf den Ausgangswert vermindert war.

Ob die Aktivität der Alkoholdehydrogenase durch Thiaminmangel eine Verminderung erfährt, ist noch nicht untersucht worden. Theoretisch wäre es möglich, da es sich dabei ja auch um eine Dehydrogenase handelt.

Pyruvatdehydrogenase benötigt ebenfalls wie Transketolase Thiamin in Form von TPP als Coenzym (LOHMANN, 1937). Bei einer ungenügenden Versorgung des Organismus mit Thiamin tritt schon sehr frühzeitig eine Erhöhung der Pyruvatkonzentration im Blut auf, da der oxidative Abbau des Pyruvats nur bei Vorhandensein von TPP in ausreichenden Konzentrationen abläuft (PETERS, 1936). Die erhöhte Pyruvatkonzentration des Blutes bei Thiaminmangel wurde durch zahlreiche Tierversuche wiederholt festgestellt. Dies trifft auch für die Pyruvatkonzentration menschlichen Blutes zu und bedeutet eine auch für die Klinik wichtige Erkenntnis (RAPOPORT, 1969).

Die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase im Thiaminmangel wurde in zahlreichen Versuchen untersucht, wobei die Angaben zum Teil nicht übereinstimmen. So fanden KOEPPE und Mitarb. (1959) im Tierversuch, daß Thiaminmangel als solcher kein Einfluß auf die Umwandlung des Pyruvats zu Acetyl-CoA hat, daß die vielmehr verminderte Umwandlungsrate des Pyruvats zu Acetyl-CoA im Thiaminmangel ein Effekt der Anorexie ist, da im Hunger die Gluconeogenese erhöht

ist, so daß Pyruvat zur Neubildung von Glucose herangezogen wird. Dagegen beschrieb REINAUER 1968, daß im Thiaminmangel eine Verminderung der Pyruvatdehydrogenase-Aktivität durch einen Mangel an Coenzym und Aroenzym nachweisbar ist. Wahrscheinlich ist die Diskrepanz dieser Ergebnisse zum Teil durch die unterschiedliche Versuchsanordnungen bedingt, zumal REINAUER seiner Thiaminmangelgruppe nur eine ad libitum ernährte Tiergruppe gegenüber stellt und nicht wie üblicherweise eine mit der "pairfed"-Technik ernährte, welche zwar unter Hunger aber nicht unter Thiaminmangel stehen würde. Außerdem muß darauf hingewiesen werden, daß zum Teil sehr verschiedene Methoden zur Messung der Pyruvatdehydrogenase-Aktivität und ihre unterschiedliche Bewertung auch zu verschiedenen Ergebnissen führen können.

Das Auftreten der Herzdysfunktionen im Thiaminmangel wird allerdings von McCANDLESS et al. 1970 mit der verminderten Pyruvatcarboxylierung im Herzen und der dadurch verursachten Minderung des Citratcyklus sowie dem Abfall der ATP-Neubildung in Zusammenhang gebracht. Eine thiaminmangelbedingte Reduzierung der Pyruvatdecarboxylierung scheint auch eine der Ursachen für die Myokardiopathie von Alkoholikern zu sein, die in ihrem Erscheinungsbild dem Beriberi-Herzen ähnelt, hinzu kommt eine direkte toxische Wirkung des Alkohols auf den Herzmuskel.

Es erscheint daher von Interesse zu ermitteln, welcher Einfluß Alkohol und Thiaminmangel auf die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase ausüben.

Außerdem beobachtete BUCLE 1965 bei Alkoholikern durch chromatographische Bestimmung eine erhöhte Blutpyruvatkonzentration, die nach Belastung mit Glucose weiterzunahm. Nach Thiamin-Behandlung der Alkoholiker kehrte der

Pyruvatgehalt zu den Normalwerten zurück. Der Autor wies darauf hin, daß die erhöhte Pyruvatkonzentration im Blut der Alkoholiker auf das Fehlen des Thiamins als Teil eines Coenzym für die Decarboxylierung von Pyruvat zurückzuführen ist. Nach Untersuchungen von HIGGINS (1963) wird die Pyruvatdehydrogenase durch Acetaldehyd gehemmt, da ein Teil des Acetaldehyds (bis 80 %) mit Pyruvat Acetoin bilden kann, wodurch Pyruvat als Substrat dem Enzym entzogen wird. Außerdem soll NADH, welches durch Alkoholoxidation entsteht und Acetyl-CoA, welches durch Metabolisierung von Acetaldehyd entsteht, Pyruvatdehydrogenase hemmen (REINAUER, 1968, REED, 1969).

Bei den Untersuchungen des Blutbildes chronischer Alkoholiker diagnostizierten einige Autoren eine hämolytische Anämie mit stark erniedrigtem Hämoglobingehalt (KUHN et al., 1966, NICHOLSON et al., 1967). Nach Untersuchungen von KUHN betrugen die Hämoglobinwerte bei Alkoholkranken zwischen 7,8 und 9,8 g%, während sie nach Ergebnissen von NICHOLSON et al. und KRASNOW (1957) 2,3 - 8,9 g% betrugen. Die Autoren berichteten aber übereinstimmend, daß nach Alkoholentzug und ausreichender Nährstoffzufuhr die hämolytischen Symptome verschwanden und die erniedrigten Hämoglobininwerte zu den Normalwerten zurückkehrten. Über die Ursachen der hämolytischen Anämie machten die Autoren keine exakten Aussagen, da die Pathogenese noch unklar ist und bisher nur hypothetische Gesichtspunkte vorliegen. Es wird vermutet, daß es sich dabei um eine Mangelanämie handeln kann, da sie sich durch vernünftige Ernährung rasch bessert, und da man bei normaler Ernährung durch Alkoholzufuhr keine Anämie produzieren konnte (KESSEL, 1962).

Nach Beobachtung von HALSTED (1967) soll die Folsäurere-sorption durch Alkoholaufnahme gestört sein. Vermutlich kann dies und eine folatarne Kost zur Entstehung der Alko-holbedingten Anämie beitragen. Denkbar wäre, daß Alkohol bei chronischer Unterernährung, die bei Alkoholikern häufig vorkommt, eine hämolytische Anämie hervorruft, aber daß weder Alkohol noch chronische Unterernährung in der Lage sind, allein eine hämolytische Anämie zu erzeugen.

Thiaminmangel allein scheint auch Änderungen am Blutbild hervorzurufen allerdings eher in entgegengesetzter Richtung. So beobachteten BROWN und Mitarb. (1965) bei Ratten im Thiaminmangel einen Anstieg des Hämoglobins gegenüber dem der Kontrolltieren. Dieser Befund wurde ebenfalls bei einigen Thiaminmangel-Versuchen des Instituts für Ernährungswissenschaft I, Giessen, festgestellt (unveröffentlichte Publikationen).

Ob chronische Alkohol-Applikation und chronischer Thiamin-mangel gemeinsam eine hämolytische Anämie verursachen können, oder welche sonstige Wirkungen sie miteinander auf das Hämoglobin ausüben, ist nicht bekannt.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1. Versuchstiere und Tierhaltung

Als Versuchstiere fanden männliche Wistar-Ratten, die von einem gewerblichen Züchter bezogen wurden, Verwendung. Die Haltung der Tiere erfolgte einzeln in Käfigen mit Drahtboden, um eine Koprophagie möglichst gering zu halten. Die Tiere wurden im klimatisierten und gleichmäßig ausgeleuchteten Stall gehalten. Das Körpergewicht wurde zweimal wöchentlich für jedes Tier einzeln ermittelt. Die Futternäpfe waren mit einem Drahtnetz bedeckt, um ein Verstreuen des Futters möglichst zu vermeiden.

3.2. Versuchsanordnung

Die Tiere wurden in jedem Versuch zunächst in zwei Gruppen eingeteilt, beide Gruppen erhielten zur Eingewöhnung 7 Tage Altromin und Haferflocken (1 + 1). Bei den Versuchen mit chronischen Alkoholgaben erhielt eine Gruppe während der Eingewöhnungszeit Äthanol im Trinkwasser, die Äthanol-Konzentration betrug zu Beginn 8 bzw. 10 % und wurde alle 3 bzw. 2 Tage um 4 % erhöht, bis die gewünschte Endkonzentration erreicht war. Diese Methode wurde nach Untersuchungen von KIEKEBUSCH (1960) gewählt, um die Tiere allmählich an den Alkohol zu gewöhnen und zu einer hohen Alkoholaufnahme zu zwingen. Zusätzlich erhielten die Tiere in einigen Versuchen noch Alkohol per Schlundsonde (GREENBERGER et al. 1965).

Für den eigentlichen Hauptversuch wurde jede Gruppe nach dem Prinzip der Randomisierung in zwei bzw. drei Untergruppen eingeteilt, sie erhielten jetzt eine halbsynthetische Kost, die den Bedarf der Ratte an essentiellen Nährstoffen voll deckte und bis auf den Thiamingehalt für alle Gruppen die gleiche war. Das Futter der Thiaminmangel-Gruppen enthielt 0,07 mg Thiamin je 100 g, das Futter der mit Thiamin vollversorgten Gruppen 2,2^{+)mg} Thiamin je 100 g. Futter und Trinkwasser sowie Alkohol-Lösung wurden ad libitum verabreicht, die pair-fed-Gruppe wurde täglich gefüttert, wobei die Tiere dieser Gruppe die gleiche Futtermenge bekamen, die die entsprechenden Tiere der Thiaminmangel-Gruppe am vorausgegangenen Tag aufgenommen hatten, allerdings mit einem Gehalt von 2,2 mg Thiamin je 100 g Futter.

3.3. Zusammensetzung der Versuchskost

Die Versuchskost wurde nach HÖTZEL (1962) unter Berücksichtigung des Nährstoffbedarfs der Ratte zusammengestellt. Die Abhandlung der Kost betraf eine Erhöhung des Eiweißanteils um 5 % (bessere Protein-Versorgung der Tiere), dafür wurde der Zuckeranteil um 5 % erniedrigt. Außerdem wurde ca. 10 % des Fettanteils durch Maiskeimöl ersetzt, um die Tiere mit essentiellen Fettsäuren zu versorgen. Die

+) Der Thiaminbedarf der wachsenden Ratten beträgt nach HÖTZEL (1962) 200 μ /100 g Futter. Der Thiamingehalt des Futters der vollernährten Gruppen wurde über den Bedarf hinausgehend erhöht (2,2 mg = 1100% des Bedarfs, Sicherheitszuschlag). Thiaminmangel-Gruppen erhielten 35 % des Bedarfs.

Kost hatte folgende Zusammensetzung/100 g:

Saccharose	55 %
Reisstärke	5,8 %
Casein, vitaminfrei	25,0 %
Schweineschmalz (mit Vitamin A, D, E) ⁺)	6,25%
Maiskeimöl	0,75%
Mineralstoffmischung (UPX XIII, flüssig)	4,0 %
Methionin	0,2 %
Cholinchlorid	0,2 %
Reisstärke	0,8 %
Vitamin-Reisstärke-Mischung	2,0 %

+) Fettlösliche Vitamine je 100 g Futter: Vitamin A 1000 IE, Vitamin D 130 IE, Vitamin E 10 mg.

Die fettlöslichen Vitamine wurden in das erwärmte Fett eingerührt.

3.4. Zusammensetzung der Vitaminmischung/100 g Futter

Die Vitaminmischung wurde nach MOORE und YONTZ (1969) ohne Thiamin hergestellt. Sie enthält sehr hohe Sicherheitszuschläge, um in Thiaminmangel-Versuchen bei Auftreten der Anorexie die Versorgung der Tiere mit allen Vitaminen, bis auf das Thiamin zu gewährleisten (isolierter Thiaminmangel).

Thiamin	2,2 mg bzw. 0,07 mg
Riboflavin	2,5 mg
Pyridoxin	2,5 mg
Pantothensäure	6,6 mg
Inosit	11,0 mg
Niacin	10,0 mg
p-Aminobenzoesäure	11,0 mg
Menadion	5,0 mg
Ascorbinsäure	100,0 mg
Folsäure	200,0 mcg
Biotin	45,0 mcg
Cobalamin	3,0 mcg

Die Vitamine wurden sehr sorgfältig untereinander vermisch, in 2 g Reisstärke eingerührt und zu 98 g Versuchskost gegeben. Das Futter wurde dann maschinell gemischt.

3.5. Organgewinnung, Hämolysat- und Homogenatherstellung

Das Blut der Tiere wurde durch Herzpunktion gewonnen und mit ca. 65 IE Na-Heparinat je ml versetzt. Unmittelbar danach wurden Herz und Leber entnommen und gewogen. Das Hämolysat zur Bestimmung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität wurde unter Zusatz von ACD nach der Vorschrift von RICHTERISCH (1968), das Hämolysat zur Bestimmung der Transketolase-Aktivität nach der Vorschrift von SCHOUTEN (1964) ohne Zusatz von ACD hergestellt. Der Herzmuskel wurde mit Plastikmessern zerkleinert und unter Eiskühlung mit dem 10-fachen Volumen 0,01 M Kaliumphosphat Puffer pH 7,0 homogenisiert. Die Herzhomogenate wurden 30 min bei 0° C stehengelassen und anschließend bei 3000 RPM zentrifugiert.

Zur Herstellung des Leberhomogenats wurden etwa 1 g Leber (Frischgewicht) mit 10 ml eisgekühltem Phosphatpuffer (0,01 M, pH 7,2) in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator unter ständiger Kühlung homogenisiert. Danach wurde das Homogenat 90 min in der Kühlzentrifuge bei 1600 RPM und 4° C zentrifugiert, um die Zelltrümmer abzutrennen.

3.6. Bestimmungsmethoden

Im Vollblut wurde der Glutathion-Gehalt nach der Methode von BEUTLER und Mitarb. (1963) und der Hämoglobin-Gehalt nach der Hämoglobin-Cyanid-Methode (RICHTERISCH, 1968) bestimmt. Die Aktivität der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase wurde im Hämolysat mit Hilfe des optischen Tests (RICHTERISCH, 1968), die Aktivität der Transketolase nach der Methode von SCHOUTEN (1964)⁺ anhand der Sedoheptulose-7-Phosphat-Produktion mit und ohne Zusatz von Thiaminpyrophosphat ermittelt. Die Aktivitätsbestimmung der Pyruvatdehydrogenase erfolgte im Herzhomogenat anhand der Acetoinbildung (SCRIBA u. HOLZER, 1961) und Acetyl-CoA-Bildung (HOLZER u. GOEDDE, 1957) mit und ohne Thiaminpyrophosphat-Zusatz. Der Thiaminpyrophosphat-Zusatz diente wie bei Transketolase-Reaktion dazu, um das Fehlen des Coenzyms bei unvermindertem Apoenzym zu erfassen. Die Bestimmung der Alkoholdehydrogenase-Aktivität erfolgte nach der Methode von GREENBERGER et al. (1965).

+) Zur Bestimmung der Transketolase-Aktivität wurde eine Modifikation der von SCHOUTEN entwickelten Methode benutzt, die in den Laboratorien der Firma Hoffmann La-Roche erarbeitet wurde.

4. ERGEBNISSE

4.1. Einfluß einer einmaligen toxischen Dosis Alkohol

In diesem Versuch wurde der Einfluß einer einmaligen toxischen Dosis von Alkohol in der Höhe die nach BARONS et al. ca. der LD_{50} entspricht an vollernährten und thiaminfrei-ernährten Ratten geprüft. Nachdem die Tiere der thiaminfrei-ernährten Gruppe an Gewicht verloren hatten, d.h. 35 Tage nach Versuchsbeginn, wurde jeweils der Hälfte der Thiaminmangelgruppe und der Hälfte der Kontrollgruppe eine Dosis von 10 g Alkohol/kg K.-Gew. in 50 %iger Lösung per Schlundsonde 2 Stunden vor der Tötung verabreicht. Die restlichen Tiere erhielten keinen Alkohol.

Tabelle 1: Gewichtsentwicklung und Futterverzehr

Versuchsgruppe	AI Mangel	BI Kontrolle
Anfangsgewicht	271 $\pm$ 33,9	266 $\pm$ 23
Endgewicht	233 $\pm$ 37,8	371 $\pm$ 28,9
Gewichtszuwachs	0	106 $\pm$ 22,7
Futterverzehr/35 Tage	366	716

Die Gewichtsentwicklung und die Futteraufnahme waren bei der Kontrollgruppe normal, während die Mangelgruppe gegen Ende der zweiten Versuchswoche - wie zu erwarten - eine hochgradige Anorexie, verbunden mit einer starken Gewichtsabnahme entwickelten.

Tabelle 2: Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität (IU/l Blut)⁺, Glutathion- und Hämoglobingehalt (mg/100 ml bzw. g/100 ml Blut)

Tiergruppe	AI Mangel+Alk.	AII Mangel-Alk.	BI Kontr.+Alk.	BII Kontr.-Alk.
Thiamin in % des Be- darfs	0	0	1100	1100
Alkohol g/ kg K.-Gew.	10	-	10	-
G-6-PDH- Aktivität	774 ± 130	815 ± 122	1053 ± 165	1062 ± 45
Hämoglobin	17 ± 1,9	16 ± 0,8	15 ± 1,3	14,8 ± 0,7
Glutathion	22,7 ± 5,8	24 ± 1,2	21,6 ± 3,1	23,5 ± 1,8

Der Einfluß des Alkohols auf die Aktivität der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase war gering, dagegen ergab sich eine deutliche Abnahme der Aktivität unter dem Einfluß des Thiaminmangels. Die Unterschiede sind statistisch gesichert (BI : BII $t = 2,98$; $P < 0,02$; BII : A II $t = 3,79$; $P < 0,01$).

Der Glutathiongehalt des Blutes war bei den mit Alkohol behandelten Tieren etwas niedriger, allerdings waren die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen statistisch nicht zu sichern. Auch der Thiaminmangel hatte im Gegensatz zu den Angaben von HSU (1960) und DRUMMOND (1961) keinen Einfluß auf den Gehalt des Glutathions.

⁺) IU/l = $\mu\text{Mol NADPH/min.}/\text{l Blut}$ (Hämatokrit = 35 %).

Der Hämoglobingehalt des Blutes war bei den thiaminunterversorgten Gruppen deutlich höher als bei den Kontrollgruppen. Der Unterschied zwischen AI und BI war nicht gesichert, wohl aber der von AII zu BII ($t = 3,64$; $P < 0,01$). Auch BROWN und Mitarb. fanden (1965) einen erhöhten Hämoglobingehalt bei Ratten im Thiaminmangel.

4.2. Einfluß einer 15-wöchigen Gabe von Alkohol im Trinkwasser

Im folgenden Versuch wurde eine chronische Alkohol-Applikation gewählt. Die Tiere der Thiaminmangelgruppen erhielten 5 Woche 0,07 mg Thiamin in 100 g Futter, danach wurde der Thiamingehalt auf 0,08 mg/100 g erhöht, um die Wirkung der chronischen Alkoholgaben bei Thiaminmangel- und vollversorgten Ratten über längere Zeit beobachten zu können. Der Versuch umfaßte 6 Gruppen mit jeweils 12 Tieren.

- Gruppe I Kontrolle mit Alkohol
- Gruppe II Kontrolle ohne Alkohol
- Gruppe III Thiaminmangel mit Alkohol
- Gruppe IV "pairfed" zu Gruppe III mit Alkohol
- Gruppe V Thiaminmangel ohne Alkohol
- Gruppe VI "pairfed" zu Gruppe V ohne Alkohol

Die Ergebnisse der Gewichtsentwicklung, Futteraufnahme und Futterwirkung (= $\frac{\text{Gewichtszuwachs}}{\text{Futteraufnahme}}$) sind in der Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Gewichtsentwicklung, Futterverzehr und Futterwirkung

Versuchsgruppe	I	II	III	IV	V	VI
Thiamin in % des Bedarfs	1100	1100	35-40	1100	35-40	1100
% Alkohol im Trinkwasser	16	-	16	16	-	-
Anfangsgewicht	127 $\pm$ 9	129 $\pm$ 9	123 $\pm$ 14	127 $\pm$ 9	124 $\pm$ 4	124 $\pm$ 10
Endgewicht	475 $\pm$ 91	561 $\pm$ 42	379 $\pm$ 63	419 $\pm$ 63	409 $\pm$ 71	469 $\pm$ 74
Gewichtszuwachs	357 $\pm$ 58	430 $\pm$ 43	263 $\pm$ 57	292 $\pm$ 62	284 $\pm$ 71	338 $\pm$ 71
Futterverzehr in g	1780	2160	1362	1362	1868	1868
Futterwirkung	0,2	0,2	0,19	0,21	0,15	0,18

Vergleicht man die Gewichtsentwicklung der sechs Versuchsgruppen, so zeigt sich ein deutlicher Unterschied, der sowohl durch Thiamin als auch durch Alkohol bedingt ist. Die Wachstumsverbesserung der Gruppe IV gegenüber III deutet auf eine bessere Versorgung des Organismus mit Thiamin hin, da beide Gruppen die gleiche Futtermenge pro Tag jedoch mit unterschiedlichem Thiamingehalt bekamen. Dasselbe gilt für die Gruppen V und VI, während bei den Gruppen I und II die unterschiedliche Gewichtsentwicklung auf die Wirkung des Alkohols zurückzuführen ist (AEBI et al., 1960, CHAUHAN u. Mitarb., 1968). Auch der Futterverzehr wurde durch Alkohol beeinflusst, was aus der Tabelle 3 zu sehen ist.

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Aktivitätsbestimmung von Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (IU/l Blut) sowie der Gehalt des Blutes an Glutathion (mg/100 ml) und Hämoglobin (g/100 ml) angegeben.

Tabelle 4: G-6-PDH-Aktivität, Glutathion und Hämoglobin

Versuchs- gruppe	I	II	III	IV	V	VI
Thiamin in % des Be- darfs	1100	1100	35-40	1100	35-40	1100
% Alkohol im Trink- wasser	16	-	16	16	-	-
G-6-PDH- Aktivität	724±196	684±236	734±451	649±60	509±134	637±162
Glutathion	20,9±5,2	19,7±6,6	22,2±5,2	25,9±4,7	23,0±6,3	23,4±4,1
Hämoglobin	14,0±1,5	15,0±1,6	13,5±1,4	15,1±1,9	15,1±0,9	14,6±2,4

Bei diesem Versuch war eine Aktivitätssteigerung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase durch Alkohol festzustellen, die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied. Eine Aktivitätsverminderung unter dem Einfluß des Thiaminmangels war nur bei Gruppe V im Vergleich zu II zu sehen, auch dieser Unterschied war nicht signifikant.

Der Glutathiongehalt des Blutes konnte weder durch Thiaminmangel noch durch Alkohol beeinflußt werden. Ebenfalls ergab sich kein deutlicher Unterschied im Hämoglobingehalt des Blutes bei einzelnen Gruppen bis auf Gruppe III, die einen ziemlich niedrigen Hämoglobingehalt im Blut

gegenüber anderen Gruppen aufwies und somit Tendenzen zur Ausbildung einer hämolytischen Anämie zeigte.

4.3. Einfluß einer 15-wöchigen Gabe von Alkohol im Trinkwasser mit zusätzlicher Schlundsondierung (2g/kg K.-Gew./Tag)

Dieser Versuch wurde mit vier Gruppen zu je 15 Tieren durchgeführt. Der Thiamingehalt des Futters der Thiaminmangelgruppen betrug 0,07 mg/100 g. Da die Tiere bereits gegen Ende der 5. Woche deutliche Thiaminmangelsymptome entwickelten, wurde ihnen eine einmalige Gabe von 0,22 mg Thiamin in 10 g Futter zusätzlich appliziert, um sie länger am Leben zu erhalten.

Die Auswertung der Gewichtsentwicklung und des Futterverzehrs sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5: Gewichtsentwicklung und Futterverzehr

Versuchsgruppe	I	II	III	IV
Thiamin in % des Bedarfs	35	35	1100	1100
% Alkohol im Trinkwasser	20	-	20	-
g Alkohol per ss ^{+) / kg/Tag}	2	-	2	-
Anfangsgewicht	137± 8	133±11	135±14	133±13
Endgewicht	312±37	369±45	362±68	492±43
Gewichtszuwachs	175±35	236±41	227±68	359±44
g Futterverzehr	895	1320	1078	1851
<u>Futterwirkung = Gewichtszuwachs / Futterverzehr</u>	0,19	0,17	0,20	0,19

+) Schlundsonde

Die Gewichtsentwicklung der Gruppen, die Alkohol erhielten, war im Vergleich zu den Gruppen ohne Alkohol erheblich vermindert. Dies beruht auf der Wirkung des Alkohols, der bekanntlich wachstumshemmend ist (CHAUHAL et al., 1968). Die statistische Auswertung der Gewichtsentwicklung in dieser Versuchsreihe ergab folgende signifikante Unterschiede:

$$I : II \quad P < 0,001; \quad III : IV \quad P < 0,001$$

Der Futterverbrauch der Tiere wurde sowohl durch Thiaminmangel als auch durch Alkohol beeinflusst, was aus der Tabelle 5 zu ersehen ist.

Tabelle 6: Ergebnisse der Aktivitätsbestimmung von Transketolase

Tier- gruppe	% Alkohol i. Trinkwasser + g/kg/Ratte/ Tag	Thiamin in % des Bedarfs	IU/l Blut ⁺⁾		TPP- Effekt
			ohne TPP	mit TPP	
I	20 + 2 g	35	27,9 $\pm$ 26,3	31,2 $\pm$ 24,9	11
II	-	35	19,2 $\pm$ 19,7	20,5 $\pm$ 19,7	6
III	20 + 2 g	1100	129,3 $\pm$ 42,5	130,2 $\pm$ 41,0	8
IV	, -	1100	134,5 $\pm$ 23,8	137,6 $\pm$ 22,9	2

Bei der Bestimmung der Transketolase-Aktivität ergab sich erwartungsgemäß eine deutliche Abnahme unter dem Einfluß es Thiaminmangels. Dagegen wurde eine Stimulierung (sta-

+) IU/l Blut = uMol Sedoheptulose-7-Phosphat/min/l Blut (Hämatokrit 35 %).

tistisch nicht gesichert) durch Alkohol bei Gruppe I gegenüber II beobachtet, jedoch nicht bei Gruppe III gegenüber IV.

Tabelle 7: Aktivität der Leber-Alkoholdehydrogenase⁺⁾

Tier- gruppe	% Alkohol i. Trinkwasser + g SS/kg/ Ratte/Tag	Thiamin in % des Bedarfs	ADH-Aktivität = IE/g Eiweiß
I	20 + 2 g	35	21,6 $\pm$ 4,6
II	-	35	27,1 $\pm$ 6,8
III	20 + 2 g	1100	22,6 $\pm$ 5,1
IV	-	1100	25,9 $\pm$ 4,9

Die Aktivität der Alkoholdehydrogenase zeigte eine geringfügige Steigerung bei mangelhafter Thiaminversorgung und eine Abnahme unter dem Einfluß von Alkohol. Zwischen Gruppe I und II lag ein signifikanter Unterschied vor (P 0,05), während der Unterschied zwischen Gruppe III und IV nicht signifikant war.

+) Alkoholdehydrogenase-Aktivität wurde von Herrn S. EGORAMAIPHOL im Rahmen seiner Diplomarbeit bestimmt.

Tabelle 8: Aktivität der Pyruvatdehydrogenase im Herzmuskel

Tier- gruppe	% Alkohol i. Trinkwasser + g/kg Ratte/ Tag	Thiamin in % des Bedarfs	mu/mg Protein ¹⁾ 10 ⁻³ mg Prot./min	
			ohne TPP	mit TPP
I	20 + 2 g	35	0,19±0,19 ²⁾	2,60±0,8
II	-	35	0,24±0,21	2,84±0,9
III	20 + 2 g	1100	0,66±0,39	2,90±0,9
IV	-	1100	0,75±0,27	3,54±0,9

Pyruvatdehydrogenase zeigte eine geringfügige Aktivitätsverminderung sowohl unter dem Einfluß des Alkohols als auch bei mangelhafter Thiaminversorgung.

Tabelle 9: Aktivität der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase

Tier- gruppe	% Alkohol i. Trinkwasser + g/kg Ratte/ Tag	Thiamin in % des Bedarfs	G-6-PDH-Aktivität= IU/l Blut
I	20 + 2 g	35	982±142,4
II	-	35	846±144
III	20 + 2 g	1100	1008±245
IV	-	1100	894±145

1) mu/mg Protein = uMol Acetoin . 10⁻³/mg Protein/min.

2) Ohne TPP-Zusatz war die Pyruvatdehydrogenase-Aktivität so niedrig, daß sie praktisch an der Grenze der Bestimmbarkeit lag.

Wie aus der Tabelle 9 hervorgeht, war bei diesem Versuch eine Aktivitätssteigerung des Enzyms Glucose-6-Phosphat-dehydrogenase durch Alkohol zu sehen, die bei Gruppe I im Vergleich zu II signifikant war ($P < 0,05$).

Tabelle 10: Gehalt des Blutes an Glutathion und Hämoglobin

Tier- gruppe	% Alkohol i. Trinkwasser + g/Tag/kg Ratte	Thiamin in % d. Bedarfs	mg SH-Glu./ 100 ml Blut	g Hämogl./ 100 ml Blut
I	20 + 2 g	35	20,0 ± 3,9	12,4 ± 1,9
II	-	35	19,2 ± 2,4	12,5 ± 2,4
III	20 + 2 g	1100	17,8 ± 2,0	12,2 ± 2,1
IV	-	1100	17,1 ± 2,1	12,8 ± 1,3

Auch bei diesem Versuch konnte eine Abnahme des Blutes an reduziertem Glutathion, wie es verschiedene Autoren beschrieben haben, weder durch Thiaminmangel noch durch Alkohol beobachtet werden. Im Gegenteil, hier zeigte sich der umgekehrte Effekt: Die mit Thiamin vollernährten Gruppen hatten den niedrigeren Glutathiongehalt und zwar war er bei Gruppe IV im Vergleich zu II signifikant vermindert ($P < 0,05$).

Das Hämoglobin des Blutes wurde von beiden Faktoren nicht beeinflusst.

4.4. Einfluß einer 5-wöchigen Gabe von Alkohol im Trinkwasser (30 bzw. 20 %) mit zusätzlicher Schlundsondierung (3 g/kg K.-Gew./Tag)

Wegen der relativ geringen Effekte die Alkohol in den vorhergegangenen Versuchen auf die untersuchten Parameter ausgeübt hatte, wurde bei dem folgenden Versuch die Alkoholkonzentration im Trinkwasser auf 30 % erhöht und zusätzlich 3 g/kg K.-Gew./Tag per Schlundsonde appliziert.

Als Versuchstiere dienten thiaminmangelversorgte und pair fed-Ratten. Da die Futteraufnahme der Tiere in den Alkoholgruppen stark zurückging, wurde nach 6 Tagen die Alkoholkonzentration des Trinkwassers von 30 % auf 20 % herabgesetzt. Der Versuch wurde mit 4 Gruppen zu je 20 Tieren durchgeführt.

Die Ergebnisse der Gewichtsentwicklung und Futteraufnahme sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Wie aus der Tabelle 11 hervorgeht, war der durchschnittliche Gewichtszuwachs der pair fed-Gruppe ohne Alkohol mit 1100 % Thiamin im Futter gegenüber der Mangelgruppe verbessert. Der Unterschied war statistisch sicherbar ($P < 0,05$). Ein geringer und nicht signifikanter Unterschied ergab sich in Gewichtszunahme bei Gruppe IV im Vergleich zu III. Die Futteraufnahme der Tiere in der Gruppe III gegenüber I war stark vermindert, was auf der Wirkung des Alkohols als Calorienträger beruht.

Tabelle 11: Gewichtsentwicklung und Futterverzehr

Versuchsgruppe	I	II	III	IV
Thiamin in % des Bedarfs	35	1100	35	1100
% Alkohol im Trinkwasser	-	-	20	20
g Alkohol/kg Ratte/Tag	-	-	3	3
Anfangsgewicht	102± 8,5	103± 8	90± 9	90±10,7
Endgewicht	207±34	226±30	182±33	186±29
Gewichtszuwachs	105±35	123±28	92±28	97±25
Futterverzehr/ 35 Tage	419	419	272	272
Futterwirkung	0,25	0,29	0,33	0,35

Tabelle 12: Glucose-6-Phosphatdehydrogenase- und Transketolase-Aktivität (IU/l Blut)

Versuchsgruppe	I	II	III	IV
Thiamin in % des bedarfs	35	1100	35	1100
G-6-PDH-Aktivität	984±190	1116±338	983±224	1085±231
Transketolase-Aktivität mit TPP	16± 13	138± 25	26± 7	153±27,5
ohne TPP	15,5±14,4	133,6± 22	22,2± 8	148,4±27,4
% TPP-Effekt	3	3	16	3

Bei diesem Versuch war keine Stimulierung des Enzyms Glucose-6-Phosphatdehydrogenase durch Alkohol zu sehen. Thiaminmangel verminderte die Aktivität des Enzyms, wobei die

Differenzen nicht signifikant waren. Auch bei diesem Versuch war eine deutliche Abnahme der Transketolase-Aktivität bei mangelhafter Thiaminversorgung feststellbar. Eine Stimulierung der Transketolase-Aktivität durch den Alkohol war in diesem Versuch sowohl bei der Thiaminmangel-Gruppe als auch bei der pair fed-Gruppe mit Alkohol gegenüber den Gruppen ohne Alkohol zu sehen. Der Unterschied war zwischen Gruppe I und III signifikant ($P < 0,01$).

Tabelle 13: Alkoholdehydrogenase-Aktivität (IE/mg Protein) und Pyruvatdehydrogenase-Aktivität (uU/mg Protein⁺)

Versuchsgruppe	I	II	III	IV
Thiamin in % des Bedarfs	35	1100	35	100
ADH-Aktivität	43,9 $\pm$ 6,8	40,5 $\pm$ 6,8	38,8 $\pm$ 11,2	31,3 $\pm$ 10,3
PDH-Aktivität				
mit TPP	591,0 $\pm$ 227,8	547,7 $\pm$ 255,1	468,0 $\pm$ 169,4	495,7 $\pm$ 177,6
ohne TPP	106,6 $\pm$ 59,0	91,7 $\pm$ 29,8	84,6 $\pm$ 30,1	86,6 $\pm$ 36,3

Die Aktivität der Alkoholdehydrogenase wurde durch Thiaminmangel erhöht (nicht signifikant) und durch Alkoholgabe vermindert, wobei zwischen Gruppe II und IV einen signifikanten Unterschied vorlag ($P < 0,01$).

+ (uU/mg Protein = uMol Acetyl-CoA . 10^{-6} /mg Protein/min.

Wie aus Tabelle 13 hervorgeht, war die Pyruvatdehydrogenase-Aktivität unter dem Einfluß des Alkohols abgefallen. Die Abhängigkeit des Enzyms von der Thiaminversorgung zeigte sich nur bei Gruppe III gegenüber IV. Die Unterschiede wären nicht gesichert.

Tabelle 14: Glutathion- und Hämoglobingehalt des Blutes
(mg/100 ml und g/100 ml)

Versuchsgruppe	I	II	III	IV
Glutathion	21,2 $\pm$ 4,3	24,3 $\pm$ 5,8	22,6 $\pm$ 4,5	24,5 $\pm$ 4,9
Hämoglobin	13,9 $\pm$ 1,3	14,2 $\pm$ 0,8	12,1 $\pm$ 2,0	12,6 $\pm$ 1,4

Die Bestimmung des Glutathiongehaltes bei diesem Versuch ergab einen Abfall bei Thiaminmangel, wobei er durch Alkohol nicht beeinflusst wurde. Der thiaminbedingte Abfall war statistisch nicht gesichert.

Die Abnahme des Hämoglobins unter dem Einfluß des Alkohols rief folgende signifikanten Differenzen hervor:

$$I : II \quad P < 0,05; \quad II : IV \quad P < 0,01$$

5. DISKUSSION

Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß die beim Menschen infolge chronischen Alkoholismus hervorgerufenen Thiaminmangelerscheinungen und die Anämie im Tierversuch mit der angewandten Versuchstechnik nicht oder nur in geringem Ausmaß reproduziert werden konnten. Nach FREUND (1970) dürfte dies zum größten Teil darauf beruhen, daß sich an Laboratoriumstieren - abgesehen von der Fettinfiltration der Leber -, die bei chronischem Alkoholismus des Menschen auftretenden Veränderungen bei Gabe von Alkohol im Trinkwasser nicht erhalten lassen. Nach Ansicht des Autors könnte die Ursache auf die unzureichende Menge an aufgenommenem Alkohol beruhen oder aber darauf, daß die Ratten einen vom Menschen sehr unterschiedlichen Rhythmus der Alkoholaufnahme während des 24 h-Tages zeigen. Wahrscheinlich spielen beide der genannten Gründe eine Rolle. Die unzureichende Alkoholaufnahme wird dadurch verursacht, daß Nagetiere die Höhe ihrer Trinkmenge reduzieren können, wenn Alkohol-Lösungen als einziges Getränk verabreicht werden. Außerdem lernen sie, vor dem Trinken den Alkohol verdampfen zu lassen, wenn die Konzentration der Alkohollösung über 15 % liegt (SOHLER, 1969). Das Verdampfenlassen des Alkohols geschieht nach Angabe des Autors dadurch, indem die Ratten im Abstand von 5 min den Tropfen trinken, der am Ende des Trinkgefäßes hängt, da in dieser Zeit praktisch 50 % des Alkohols verdampft ist. Als weitere Ursachen für das unterschiedliche Verhalten von Mensch und Tier gegenüber chronischer Alkoholaufnahme dürften die Entwicklungsdauer, die Wirkung von Begleitstoffen, die in alkoholischen Getränken in beträchtlichen Mengen vorkommen können, und die Ernährungsweise eine Rolle spielen.

Die Auswertung der Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung sämtlicher Versuche ergab, daß diese sowohl durch Thiamin-unterversorgung als auch Alkoholaufnahme reduziert wurden.

Die wachstumshemmende Wirkung des Alkohols wurde bereits durch zahlreiche Untersuchungen festgestellt (AEBI et al., 1960, CHAUHAN et al., 1968). Die Autoren beobachteten, daß bei Ratten ein Ersatz der Flüssigkeit durch 10 - 15 % Äthanol zu einer Verminderung des Futterverbrauchs in Höhe der durch Alkohol aufgenommenen Calorien führt, wobei trotzdem die Wachstumsrate vermindert ist. Alkohol scheint somit eine spezifisch wachstumshemmende Wirkung zu haben.

Zur Frage, ob Interaktionen von Thiamin und Alkohol im Intermediärstoffwechsel nachweisbar sind, beziehungsweise, ob chronische Alkoholgaben die Thiaminversorgungslage verschlechtern, kann aufgrund der Ergebnisse folgendes gesagt werden.

Die Abhängigkeit der Transketolase-Aktivität der Erythrocyten von der alimentären Thiaminzufuhr, wie BRIN und Mitarb. 1958 und 1960 feststellten, konnte in den vorliegenden Untersuchungen bestätigt werden.

Bei der Überprüfung des Effektes chronischer Alkoholgaben auf die Aktivität der Transketolase ergab sich, daß Alkohol sowohl bei thiaminvollversorgten als auch bei thiaminmangelversorgten Ratten die Transketolase der Erythrocyten stimuliert. Dieser Befund wurde auch von ZIEVE et al. (1968) erhoben, die durch Verfütterung einer 10 %igen Äthanol-Lösung während einer Versuchsdauer von 8 Wochen eine erhöhte Aktivität der Leber-Transketolase bei thiaminvoll- und mangelernährten Ratten feststellten. Als Ursache wird vermutet, daß der Glucoseumsatz des Erythrocyten über den HMP-Weg durch Alkohol stimuliert wird, ebenso wie es von HIGGINS (1963) für das Gehirn beschrieben wurde. Zur Prüfung dieser Frage wurde daher die Aktivität des Schlüs-

selenzyms des HMP-Weges, sowie die Konzentration an reduziertem Glutathion bestimmt, welches nach JAKOB et al. (1966) den Umsatz über den Pentosephosphat-Cyklus reguliert. Es ergab sich, daß die Aktivität der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase im Thiaminmangel vermindert war, allerdings bei weitem nicht in der Größenordnung, wie dies für die Transketolase zutrifft.

Eine Aktivitätsabnahme der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase im Thiaminmangel ist bereits von verschiedenen Autoren beobachtet worden (COLAJACOMO u. Mitarb., 1963), die meisten untersuchten das Leberenzym. Der Effekt ist sicherlich weniger auf das Fehlen von Thiamin zurückzuführen, sondern dürfte eher durch die mangelhafte Futteraufnahme hervorgerufen werden. Hunger führt nach NOVELLO et al. (1969) bei der Leber-Glucose-6-Phosphatdehydrogenase zu einer deutlichen Aktivitätsabnahme. Eine Stimulierung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität durch Alkohol konnte in 2 Versuchen nachgewiesen werden, es scheint eine Korrelation zur Erhöhung der Transketolase-Aktivität zu bestehen. Beim letzten Versuch überlagerten sich verschiedene Effekte auf die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase : Thiaminmangel, verminderte Futteraufnahme und Alkohol, deren gegenläufige Tendenzen im Endeffekt eine gegenüber den Kontrollen unveränderte Aktivität ergaben. Die Transketolase scheint dagegen nicht durch eine reduzierte Calorienmenge vermindert zu werden, so daß hier die Stimulierung durch Alkohol auch im letzten Versuch sichtbar wurde.

Die alkoholbedingte Aktivitätserhöhung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase in den Erythrocyten bei den Gruppen, die ad libitum gefüttert wurden, entspricht der von BARON und Mitarb. (1969) bereits im Tierversuch nachgewiesenen Steigerung der Dehydrogenasen des Pentosephosphat-

Cyklus der Leber unter dem Einfluß einer einmaligen i.p. Injektion von 3 g Äthanol/kg K.-Gew. Die Ursache liegt nach Angaben der Autoren darin, daß Äthanol wegen der Abnahme des NAD/NADH-Verhältnisses die Glykolyse hemmt und daß Glucose deshalb bevorzugt über den Pentose-phosphat-Cyklus metabolisiert wird. Ob diese Aktivitätssteigerung ein spezifischer Effekt des Alkohols ist, wie er etwa durch Beeinflussung der Redoxpaare NAD/NADH und NADP/NADPH hervorgerufen sein könnte, oder aber ob sich die Erhöhung der Calorienmenge durch Alkohol hier auswirkt, kann nicht entschieden werden.

Die Bestimmung des Blutspiegels von reduziertem Glutathion ergab, daß dieser durch Alkohol bzw. Acetaldehyd nicht meßbar abgenommen hatte. Dem entsprechend ließ sich die von ESTLER und AMMON (1966) beobachtete Abnahme des Glutathionsgehaltes im Blut nach einmaliger Alkoholgabe hierbei nicht beweisen. Eine thiaminabhängige Verminderung des Glutathions im Blut, wie HSU (1960) und DRUMMOND (1961) feststellten, ergab sich nur beim letzten Versuch. Dagegen zeigten die Thiaminmangeltieren im Durchschnitt einen höheren Glutathionspiegel im Blut. Dies könnte möglicherweise auf einer Ausschwemmung aus der Leber und Übertragung ins Blut beruhen. Aus der vorhandenen Literatur konnte zur Diskussion dieser Überlegung kein Hinweis gefunden werden.

Der Effekt einer chronischer Alkoholaufnahme auf den Glutathionumsatz über den HMP-Weg in Erythrocyten, der sich in einer Aktivitätssteigerung der Enzyme Glucose-6-Phosphatdehydrogenase und Transketolase äußerte, scheint sich also nicht gleichsinnig auf den Glutathionspiegel auszuwirken.

Zu den Zielsetzungen der Untersuchungen gehört auch das Klären der Frage, inwieweit die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase durch Thiaminmangel und Alkohol beeinflusst wird. Die Aktivität des Enzyms soll nach KOEPPE und Mitarb. von der Thiaminversorgung nicht beeinflusst werden und die bereits beim Thiaminmangel beobachteten Verminderung ein Effekt des Hungerns sein. Dies steht in Übereinstimmung mit dem Ergebnis des letzten Versuchs, da hierbei die Pyruvatdehydrogenase-Aktivität bei der pair fed-Gruppe (Gr.II) im Vergleich zu Thiaminmangelgruppe (Gr.I) vermindert war, obwohl die Versorgung dieser Gruppe mit Thiamin vollgedeckt war. Die Aktivität des Enzyms erfuhr sowohl bei Kontrollgruppen als auch bei Mangelgruppen eine Verminderung durch Alkoholbelastung. Eine mögliche Erklärung wäre, daß durch eine Reaktion zwischen Pyruvatdehydrogenase und Alkohol bzw. seinen Abbauprodukten die katalytische Funktion des Enzyms herabgesetzt wird. Für den verminderten Umsatz von Pyruvat zu Acetyl-CoA könnte ebenfalls der durch Alkohol reduzierte NAD/NADH-Quotient verantwortlich sein, da die Pyruvatdehydrogenase-Aktivität nach REINAUER (1968) dadurch entscheidend beeinflusst wird. Zugleich kommt für das Absinken der Pyruvatdehydrogenase-Aktivität dem durch Alkohol vermehrten Acetyl-CoA-Pool eine Bedeutung zu. Dies entsteht einmal durch die Umwandlung des Acetats (Nebenprodukt, der Alkoholoxidation) mit Coenzym A und ATP und zum anderen Mal infolge Hemmung des Citratcyklus durch Alkohol, wodurch das gesamte Acetyl-CoA aus dem Alkoholabbau nicht zu CO_2 umgesetzt werden kann (BÖHLE, 1970). Durch vermehrten Acetyl-CoA-Pool vermindert sich das Verhältnis des CoA/Acetyl-CoA, das nach REINAUER (1968) auch die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase ungünstig beeinflussen soll.

Aufgrund der Ergebnisse scheint Alkohol in der Lage zu sein, die Pyruvatdehydrogenase-Aktivität ungünstig zu beeinflussen.

Zur Frage, ob sich im Tierversuch durch Alkohol eine Anämie erzeugen läßt, wurde der Hämoglobingehalt des Blutes ermittelt. Die Ergebnisse zeigten, daß dieser durch thiaminfreie Ernährung deutlich zugenommen hatte. Dies wurde ebenfalls von BROWN und Mitarb. (1965) beobachtet. Nach Ansicht der Autoren könnte der erhöhte Hämoglobingehalt im Thiaminmangel auf einen schweren Verlust an Körperflüssigkeit beruhen, wodurch die relative Hämoglobin-Konzentration steigt. Außerdem ergab sich eine alkoholbedingte Tendenz zur Ausbildung einer Anämie, die beim letzten Versuch deutlich zu sehen war. Der beobachtete Abfall des Hämoglobins läßt vermuten, daß dieses, wie KUHN et al. (1966) und NICHOLSON und Mitarb. (1967) bei chronischer Alkoholikern beobachteten, erst dann auftritt, wenn Alkohol in hoher Menge aufgenommen wird und dadurch die Nahrungsaufnahme ungünstig beeinflusst.

Die Untersuchungen, inwieweit die Entgiftungskapazität der Leber gegenüber Alkohol im Thiaminmangel beeinflusst wird, ergaben, daß die Alkoholdehydrogenase-Aktivität durch Thiaminunterversorgung stimuliert und durch Alkohol vermindert wird.

Das Absinken der Alkoholdehydrogenase-Aktivität der Leber durch chronische Alkoholgaben steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von FIGUEROA und KLOTZ (1962), die bereits unter Zufuhr höherer Dosen Alkohol eine Abnahme der Alkoholdehydrogenase-Aktivität in der Leber beobachteten. Dieser Befund ergab sich aber auch aus den Untersuchungen von BODE und Mitarb. (1970), die 15 % Alkohol über 3 Monaten an Ratten verabreichten. Als Ursache dafür kann die Abnahme des NAD/NADH-Quotienten durch Alkoholoxydation verantwortlich gemacht werden, weil dadurch

die Reaktion der Alkoholdehydrogenase, für die NAD benötigt wird gehemmt ist. Die erhöhte Alkoholdehydrogenase-Aktivität der Leber beim Thiaminmangel spricht für die Annahme, daß im Thiaminmangel der oxidative Abbau des Pyruvats, der bekanntlich NAD-abhängig ist, gestört ist. Möglicherweise steht dadurch der Alkoholdehydrogenase, deren Aktivität von der NAD-Konzentration beeinflusst wird, mehr NAD zur Verfügung.

Die Wirkung des Alkohols an Ratten wurde von früheren Autoren meistens mit der Versuchstechnik untersucht, daß Alkohol im Trinkwasser verabreicht wurde. Die Ergebnisse zeigten immer wieder, daß sich die beim Menschen hervorgerufenen Symptome, die alkoholbedingt sind, dadurch nur gering reproduzieren lassen. Die Ursache liegt zum Teil darin, daß die aufgenommene Alkoholmenge im Vergleich zu der bei menschlichen Alkoholikern zu wenig war. Mit der Steigerung der Alkoholkonzentration scheint das Problem nicht gelöst zu sein, da die Ratten in der Lage sind, ihre Trinkmenge zu reduzieren. Daher soll es besser sein, wenn Alkohol in Form einer flüssigen Kost verabreicht wird.

Nach FREUND (1970) führt die Einbringung von Alkohol in Flüssigfutterformen zu größerer Alkoholaufnahme. Es erscheint denkbar, daß die bei Verabfolgung eines alkoholischen Futters aufgenommene Alkoholmenge sich in monatelangen Versuchen steigern läßt und daß hierdurch die Schaffung eines Tiermodells für die beim chronischen Alkoholismus des Menschen vorliegenden Verhältnisse möglich wird.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Thiaminmangelerkrankungen sowie die Anämie, die bekanntlich häufig bei chronischen Alkoholikern beobachtet werden, ließen es interessant erscheinen, den Einfluß chronischer Alkoholgaben und des Thiaminmangels gemeinsam an wachsenden männlichen Wistar-Ratten zu untersuchen.

In vier Versuchen wurde der Effekt von Alkohol in verschiedener Dosierung und Applikationsart, kombiniert mit Thiaminmangel, auf einige Enzyme und Metaboliten der Erythrocytenstoffwechsel (Transketolase, Glucose-6-Phosphatdehydrogenase und Glutathion), auf die Aktivität des alkoholentgiftenden Enzyms der Leber-Alkoholdehydrogenase und die Pyruvatdehydrogenase des Herzmuskels untersucht. Die Gewichtsentwicklung sowie der Futterverbrauch der Tiere wurden bei jedem Versuch festgestellt.

Im allgemeinen zeigten die Ergebnisse, daß die Thiaminmangelerkrankungen und die Anämie, die beim Menschen durch Alkohol hervorgerufen werden, im Tierversuch im geringen Ausmaß reproduzierbar sind. Als Ursache für die relativ niedrigen Effekte dürften die unzureichende Menge an aufgenommenem Alkohol, die Applikationszeit und die Ernährungsweise eine Rolle spielen.

Alkohol und Thiaminmangel übten eine reduzierende Wirkung auf die Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung aus.

Transketolase- und Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität der Erythrocyten waren im Thiaminmangel vermindert, dagegen waren sie unter dem Einfluß des Alkohols stimuliert.

Der Gehalt des Blutes an reduziertem Glutathion wurde weder durch Alkohol noch durch Thiaminmangel beeinflusst.

Die Aktivitäten der Enzyme Pyruvatdehydrogenase und Alkoholdehydrogenase wurden durch Alkohol vermindert. Durch Thiaminmangel war die Alkoholdehydrogenase-Aktivität erhöht, möglicherweise ist also die Entgiftungskapazität der Leber gegenüber Alkohol im Thiaminmangel verbessert.

Alkohol verminderte den Hämoglobingehalt des Blutes, führte also zur Ausbildung einer Anämie. Dagegen war der Hämoglobingehalt im Thiaminmangel angestiegen.

7. ENZYMENOMENKLATUR UND KENNZIFFERN

Alkoholdehydrogenase (ADH, 1.1.1.1) .

Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH, 1.1.1.49)

Pyruvatdehydrogenase (PDH, 1.2.4.1)

Transketolase (2.2.1.1)

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. AEBI, H.E.: Inborn errors of metabolism.
Ann.Rev.Biochem. 36, 288 (1967)
2. AEBI, H.E.: Vergleichende biologische Aspekte der experimentellen Forschung chronischer Alkoholwirkung.
Bull.Schweiz.Akadem.Wiss. 16, 25 (1960)
3. BARON, P., G. GRIFFATON u. R. LOWRY: Einfluß einer i.p. Injektion von Äthanol auf den Leberstoffwechsel der Ratte.
Fd.Cosmet.Toxicol. 7, PP.309 (1968)
4. BARONS, C.D. u. L.G. ELTHERING: Drug dosage in laboratory animals.
University of California and Los Angeles (1965), S. 25
5. BEUTLER, E., O. DURON u. K.B. MIKUS: Improved method for the determination of blood glutathione.
J.Lab.Clin.Med. 61, 882 (1963)
6. BITSCH, I., K. SCHIELE, E. KUNSEMÜLLER u. I. BENTHIEN: Thiaminmangel und Unbedenklichkeit von Sulfit für den Mensch.
Int.Z.f.Vitaminforsch. 39, 384 (1969)
7. BODE, CH., H. GOEBELL u. M. STÄHLER: Änderung der Alkoholdehydrogenase-Aktivität in der Rattenleber durch Eiweißmangel und Alkohol.
Z.ges.exp.Med. 152, 111 (1970)
8. BÖHLE, E.: Biochemische Grundlagen und Aspekte der Alkoholischen Leberschäden.
Z.f. Gastroenterologie 7, 81 (1969)
9. BRIN, M., St.S. SHOHET u. CH.S. DAVIDSON: The effect of thiamine deficiency on the glucose oxidative pathway of rat erythrocytes.
J.Biol.Chem. 230, 319 (1958)
10. BRIN, M.: Erythrocyte transketolase in early thiamine deficiency.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 98, 528 (1962)
11. BRIN, M., M. TAI, A.B. OSTASHEVER u. H. KALINSKY: The effect of thiamine deficiency on the activity of erythrocyte hemolysate transketolase.
J.Nutr. 71, 273 (1960)

12. BRIN, M.: Erythrocyte as a biopsy tissue for functional evaluation of thiamine adequacy.
J.Am.Med.Ass. 187, 762 (1964)
13. BRIN, M., M.V. DIBBLE, A. FEEL, E. McMULLEN, A. BOURQUIN u. N. CHEN: Some preliminary findings on the nutritional status of the aged in Onondage Country, New York.
Am.J.Clin.Nutr. 17, 240 (1965)
14. BROWN, M.L. u. C.H. SNODGRASS: Reproduction and maternal response of the rat when thiamine intake is limited.
J.Nutr. 87, 353 (1965)
15. BUCLE, R.M.: Blood pyruvic and -ketoglutaric acids in thiamine deficiency.
Metabolism 14, 141 (1965)
16. CHAUHAN, S. u. I. DONIACH: Wirkung der Äthanolzufuhr auf das Wachstum von Ratten.
Nutr. Dieta 10, 91 (1968)
17. COLAJACOMO, A., M.E. ACQUARONE u. FIORENTINI: Vitaminosi B₁ e biosintesi di coenzimi piridinici nel ratto.
Boll.Soc.Ital.Biol.Sperm. 39, 411 (1963)
18. DAJANI, R.M., J. DAMELSKY u. J.M. ORTEN: The alcohol-acetaldehyde dehydrogenase systems in the liver of alcohol-treated rats.
J.Nutr. 80, 196 (1963)
19. DAJANI, R.M. u. CH. KOUYOUJIAN: A study of some enzyme systems in liver of rats after prolonged injektion of alcohol.
J.Nutr. 88, 157 (1966)
20. DEUS, B., H. BLUM u. H. HOLZER: Symposium über Vitamin-aufnahme und latente Vitaminmangelzustände, München DGE e.V. 1968
21. DRUMMOND, G.I.: Glyoxalase activity in liver and blood of thiamine deficient rats.
J.Nutr. 74, 357 (1961)
22. ESTLER, C.J. u. P.T. AMMON: Glutathion und SH-gruppenhaltige Enzyme in der Leber weißer Mäuse nach einmaliger Alkoholgabe.
Med.Pharma.Exp. 15, 299 (1966)
23. FENNELLY, J., O. FRANK, H. BAKER u. C.M. LEEVY: Peripheral neuropathy of the alcoholic. Aetiological role of aneurin and other B-complex vitamins.
Brit.Med.J. 2, 1290 (1964)

24. FIGUEROA, R.B. u. A.P. KLOTZ: Alteration of alcohol dehydrogenase and other hepatic enzymes in experimental chronic liver disease. *Metabolism* 11, 1196 (1962)
25. FLAIG, J.: Alkoholische Polyneuritis und gewisse andere Nervenstörungen als Folge falscher Ernährung. *Med.Klin., Wschr.f.prakt.Ärzte*, Berlin, Wien, Prag, 1939, S. 687
26. FORSANDER, O., N. RÄIHÄ u. H. SOUMALAINEN: Oxidation des Äthylalkohols in isolierter Leber der Ratte. *Hoppe-Seyler, s. Z.Physiol.Chem.* 318, 1 (1960)
27. FREUND, G.: Alcohol consumption and its circadian Distribution in mice. *J.Nutr.* 100, 30 (1970)
28. GREENBERGER, N.J., R.B. COHEN u. K.J. ISSELBACHER: The effect of chronic ethanol administration on liver alcohol dehydrogenase in the rat. *Lab.Invest.* 14, 264 (1965)
29. GUBLER, C.J.: Enzyme studies in thiamine deficiency. *Int.Z.f.Vitaminforsch.* 38, 287 (1968)
30. HALSTED, CH.H.: Wirkung von Alkoholismus auf die Absorption von Folsäure, beurteilt mittels des Plasmaspiegels und der Harnausscheidung. *J.Lab.Clin.Med.* 69, 116 (1967)
31. HAWKINS, R.D., H. KALANT u. J.M. KHANNA: Effect of chronic intake of ethanol on rate of ethanol metabolism. *Canad.J.Phys.Pharmacol.* 44, 241 (1966)
32. HIGGINS, E.S.: Stimulation of phosphogluconat pathway in rat brain mince by ethanol. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 114, 591 (1963)
33. HOLZER, H. u. H.W. GOEDDE: *Biochem.Z.* 329, 175 (1957a)
34. HÖTZEL, D.: *Schrift. Inst.Ernährungswiss.d. J.Liebig- Univ.Giessen*, herg. von H.D. CREMER, Heft V, Hamburg-Berlin, Behr Verlag 1962
35. HSU, J.M. u. B.F. CHOW: Effect of thiamine deficiency on glutathione contents of erythrocytes and tissues in the rat. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 104, 178 (1960)

36. JACOB, H.S.: Effect of sulphhydryl inhibition on red blood cells.
J.Biol.Chem. 241, 4234 (1966)
37. JAULMES, P., M. BOUCARD u. J.P. LAVAL: Sur le role protecteur de l'aneurine vis-à-vis de l'intoxication éthylique.
Trav.Soc.Pharma.Montpellier XIX, 91 (1959)
38. KERSHAW, P.W.: Blood thiamine and nicotinic acid levels in alcoholism and confusional states.
Brit.J.Psychiat. 113, 387 (1967)
39. KESSEL, L.: Zit. nach KUHN, D.
Dt.med.Wschr. 91, 1634 (1966)
40. KIECKEBUSCH, W.: Zur Frage der Schutzwirkung von Thiamin bei chronischer Alkoholintoxikation.
Z.f.Ernährungswiss. Band I, 142 (1960)
41. KOEPPE, R.E., G.A. MOURKIDES u. R.J. HILL: Some factors affecting routes of pyruvate metabolism in rats.
J.Biol.Chem. 234, 2219 (1959)
42. KRASNOW, S.E.: Megaloblastic anemia in "alcoholic" cirrhosis.
Arch.of intern.Med. 100, 870 (1957)
43. KUHN, D., J. MEISER, A. WAGNER u. G. NEUBER: Passagere hämolytische Anämie bei Hyperlipämie und Leberschädigung infolge Alkoholismus (Zieve-Syndrom).
Dt.med.Wschr. 91, 1634 (1966)
44. LOHMANN: Zit. nach RAPOPORT, S.M.
Medizinische Biochemie, Lehrbuch für Studierende und Ärzte.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1969), S. 260
45. McCANDLESS, D.W., C. HANSON, K.V. SPEEG u. S. SCHENKER: Cardiac metabolism in thiamine deficiency in rat.
J.Nutr. 100, 991 (1970)
46. MIRONE, L.: Effect of prolonged ethanol intake on body weight, liver weight and liver nitrogen, glycogen, ADH, NAD and NADH of mice.
Life Sci. 4, 1195 (1965)
47. MOORE, R.O. u. F.D. YONTZ: Effect of thiamine deficiency in rats on adipose tissue lactat dehydrogenase isoenzyme distribution.
J.Nutr. 98, 325 (1969)

48. NICHOLSON, G.I., J.G. BUCHANAN u. P.R. HORNE: Alcoholism presenting as anemia due to folate deficiency. N.Z.Med.J. 66, 678 (1967)
49. NOVELLO, F., J.A. GUMAA u. P. McLEAN: The pentose phosphat pathway of glucose metabolism. Biochem.J. 111, 713 (1969)
50. PETERS, R.A.: Lancet 1, 1161 (1936)
51. RACKER, E., O. de la HABA u. I.G. LEDER: Zit. nach LARYEA, J.U., Dissertation, Giessen 1970, S. 43
52. RAPOPORT, S.M.: Medizinische Biochemie, Lehrbuch für Studierende und Ärzte, 5. durchgesehene und ergänzte Auflage, Berlin: VEB-Verlag 1969, S. 260
53. REED, L.J.: Pyruvate dehydrogenase complex. Current Topic in Cellular Regulation 1, 233 (1969)
54. REINAUER, H., G. GRASSNOW u. S. HOLLMANN: Aktivitätsänderung der Pyruvatdehydrogenase im Thiaminmangel. Hoppe-Seyler's Z. Physiol.Chemie 349, 969 (1968)
55. REINAUER, H.: Coenzymbedingte Enzyminduktion in Mitochondrien nach Thiaminmangel. Habilitationsschr. Med. Fakultät Univ. Düsseldorf, 1968
56. RICHTERICH, R.: Klinische Chemie, Theorie und Praxis, 2. erweiterte Auflage 1968. Hämoglobin-Cyanid, S. 333 und G-6-PDH, S. 355
57. SCRIBA, P. u. H. HOLZER: Biochem. Ztschr. 334, 473 (1961)
58. SCHOUTEN, H., L.M. VAN EPS u. A.M. BOUDIER: Transketolase in blood. Clin.Chem.Acta 10, 474 (1964)
59. SOHLER, A., P. BURGIO u. P. PELLERIN: Changes in drinking behavior in rats in response to large doses of alcohol. Quart.J.Stud.Alc. 30, 161 (1969)
60. STOTZ, E., W.W. WESTERFELD u. R.L. BERG: The metabolism of acetaldehyd with acetoin formation. J.Biol.Chem. 152, 41 (1944)
61. TOMASIE, A.: Transketolase-Aktivität der Erythrocyten bei chronischer Alkoholismus unter verschiedenen Thiaminmangelzuständen. Acta Vitaminol. et Enzymol. 23, 208 (1969)

62. WESTERFELD, W.W., E. STOTZ u. R.L. BERG: The role of pyruvat in the metabolism of ethyl alcohol.
J.Biol.Chem. 144, 657 (1942)
63. ZIEVE, L., W.M. DOIZAKI u. L.E. STENROOS: Effect of magnesium deficiency on growth response to thiamine of thiamine-deficient rats.
J.Lab.a.Clin.Med. 72, Nr. 2, 261 (1968)
64. ZIEVE, L., W.M. DOIZAKI u. L.E. STENROOS: Effect of magnesium deficiency on blood and liver transketolase activity and on the recovery of enzyme activity in thiamine-deficient rats receiving thiamine.
J.Lab.a.Clin.Med. 72, Nr. 2, 268 (1968)

9. BILDANHANG

Graphische Darstellungen von Ergebnissen der durchgeführten Versuche.

Versuch 1

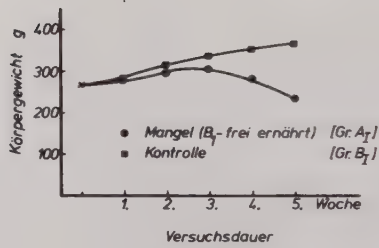


Abb. 1: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

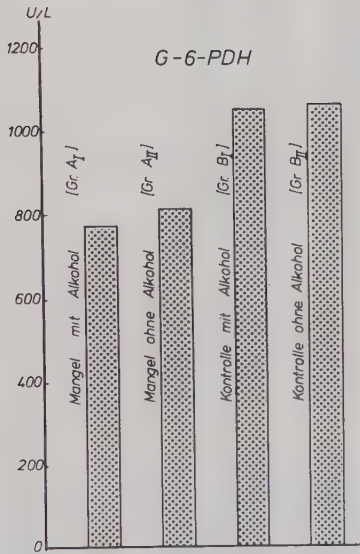


Abb. 2: Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität
der Erythrocyten
U/L = $\mu\text{Mol NADPH/min/l Blut}$
(Hämatokrit 35 %)

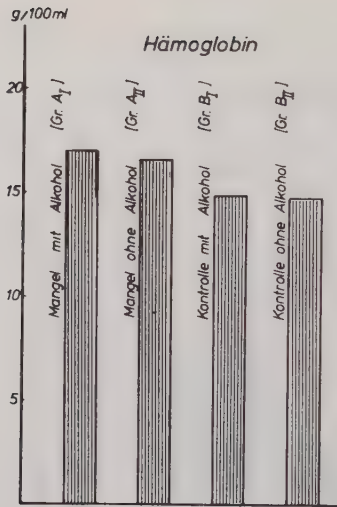


Abb. 3: Gehalt des Blutes an Hämoglobin

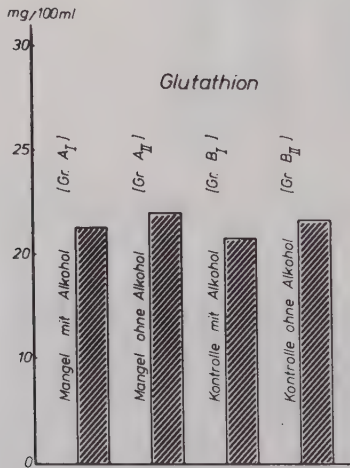


Abb. 4: Glutathiongehalt des Blutes

Versuch 2

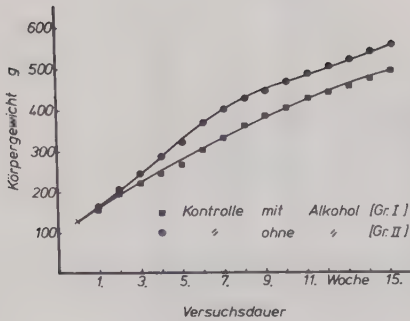


Abb. 5: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

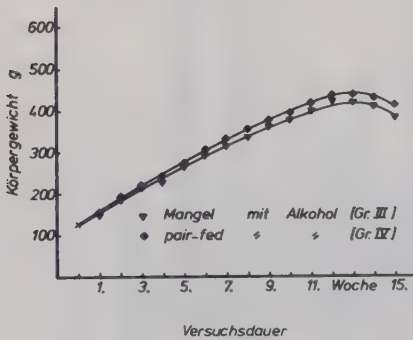


Abb. 6: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

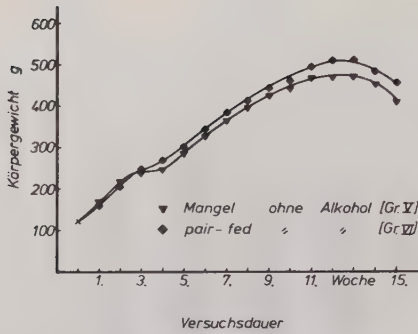


Abb. 7: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

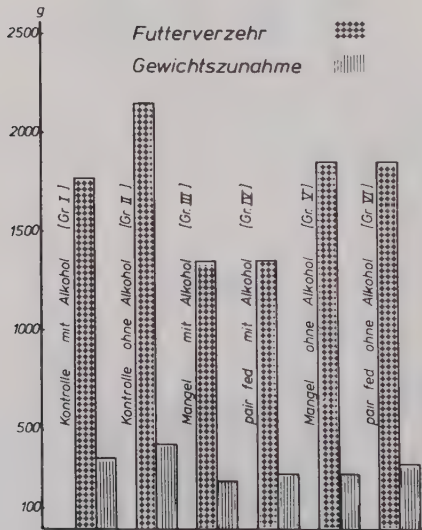


Abb. 8: Futterverbrauch und Gewichtszunahme der Versuchstiere während der 15-wöchigen Versuchsdauer

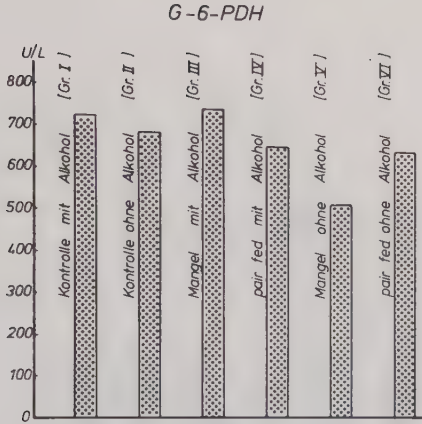


Abb. 9: Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität der Erythrocyten

U/L = $\mu\text{Mol NADPH/min/l Blut}$ (Hämatokrit 35 %)

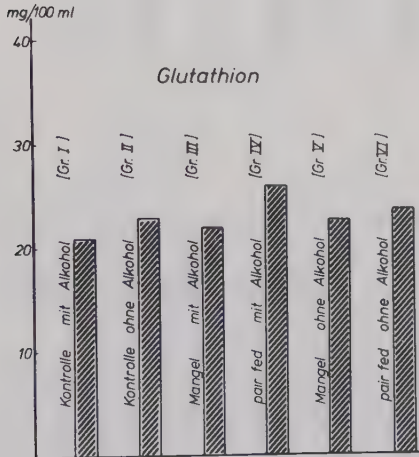


Abb. 10: Glutathiongehalt des Blutes

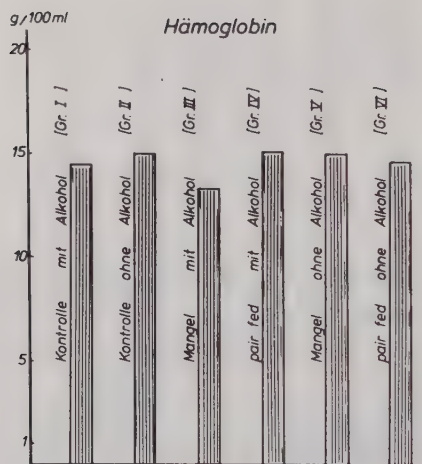


Abb. 11: Hämoglobingehalt des Blutes

Versuch 3

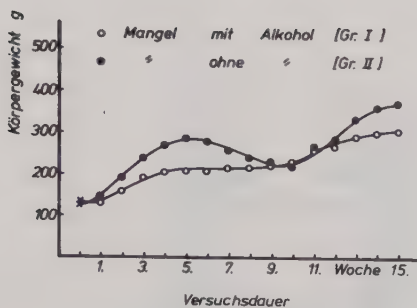


Abb. 12: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

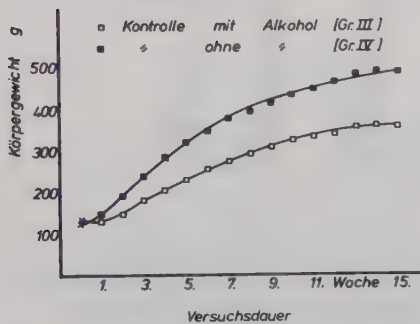


Abb. 13: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

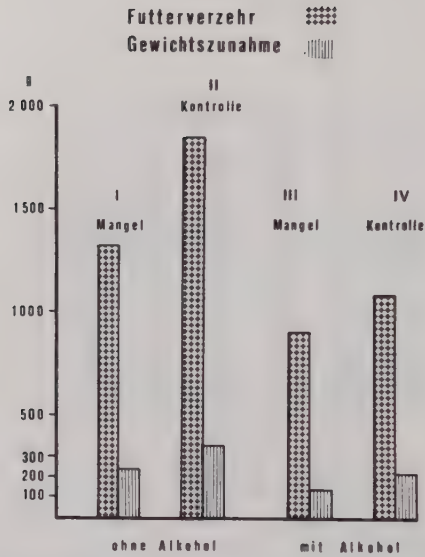


Abb. 14: Futtermittelverbrauch und Gewichtsentwicklung
der Versuchstiere während 15 Wochen
Versuchsdauer

Transketolaseaktivität im Blut

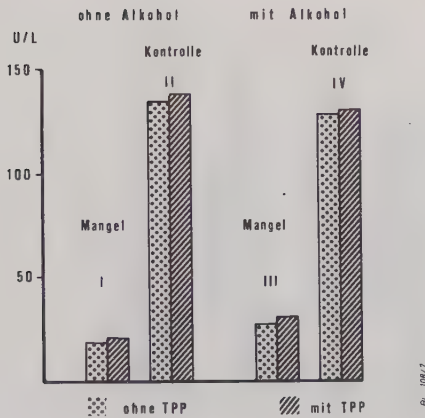


Abb. 15: Transketolase-Aktivität der Erythrocyten
 U/L = $\mu\text{Mol Sedoheptulose-7-Phosphat/min/l Blut}$
 (Hämatokrit 35 %)

ADH-Aktivität

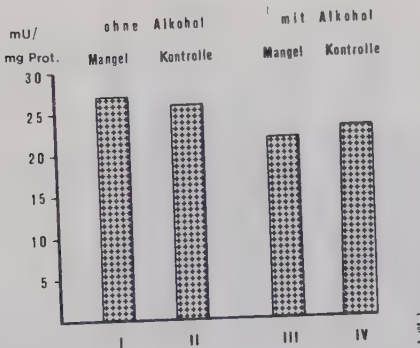


Abb. 16: Alkoholderhydrogenase-Aktivität der Leber
 mU/mg Protein = $\mu\text{Mol NAD/min/mg Protein}$

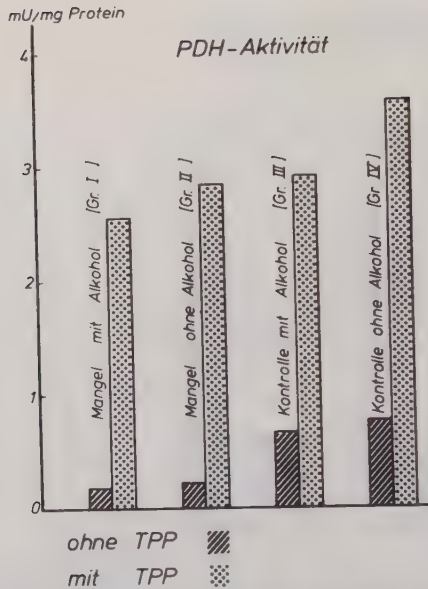


Abb. 17: Aktivität der Pyruvatdehydrogenase im Herzmuskel
 $\text{mU/mg Protein} = \mu\text{Mol Acetoin} \cdot 10^{-3} / \text{mg Protein/min}$

G-6-PDH

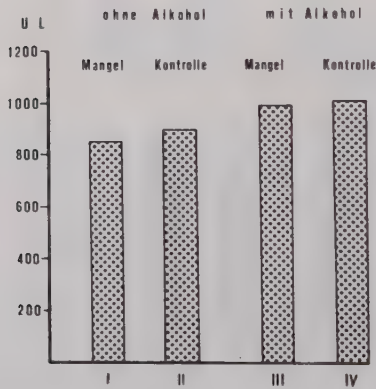


Abb. 18: Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität der Erythrocyten

U/L = $\mu\text{Mol NADPH/min/l Blut}$ (Hämatokrit 35 %)

Glutathion

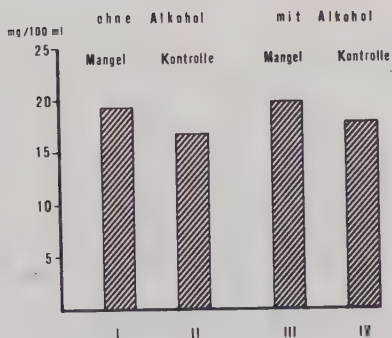


Abb. 19: Glutathiongehalt des Blutes

Hämoglobin

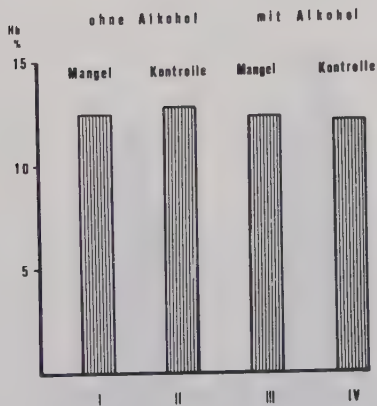


Abb. 20: Hämoglobingehalt des Blutes

Versuch 4

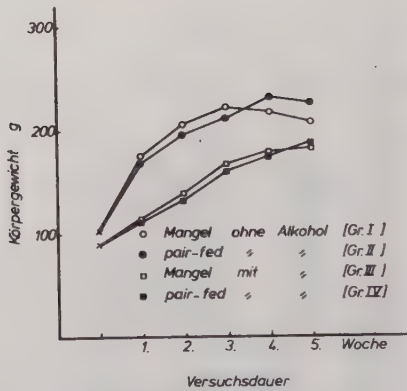


Abb. 21: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

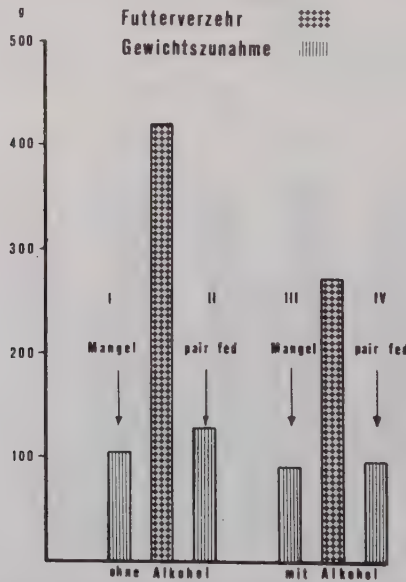


Abb. 22: Futtermittelverzehr und Gewichtsentwicklung der Versuchstiere während 5 Wochen Versuchsdauer

G-6-PDH

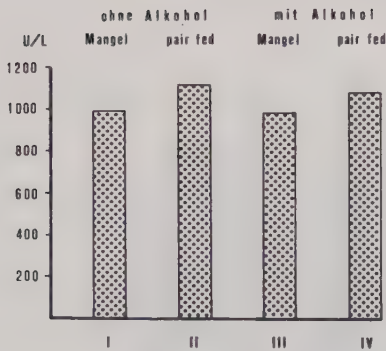


Abb. 23: Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Aktivität der Erythrocyten

U/L = $\mu\text{Mol NADPH/min/l Blut}$ (Hämatokrit 35 %)

Transketolaseaktivität im Blut

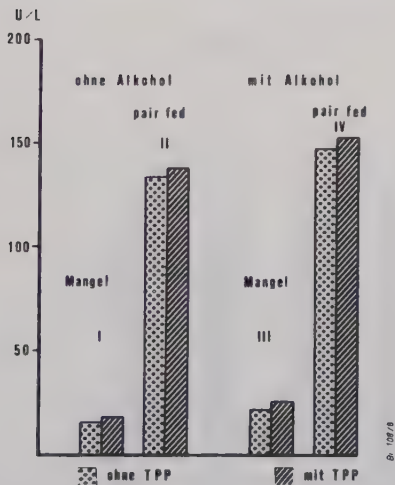


Abb. 24: Transketolase-Aktivität der Erythrocyten

U/L = $\mu\text{Mol Sedoheptulose-7-Phosphat/min/l Blut}$ (Hämatokrit 35 %)

ADH - Aktivität

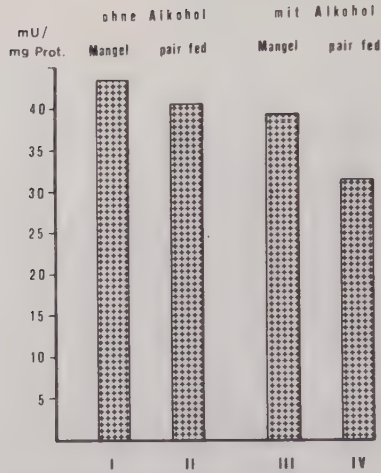


Abb. 25: Alkoholdehydrogenase-Aktivität der Leber
 mU/mg Protein = mMol NAD/mg Protein/min

PDH-Aktivität

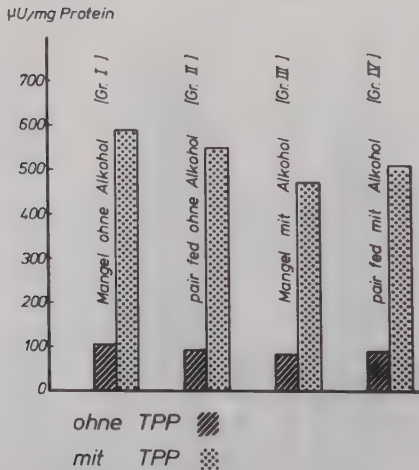


Abb. 26: Pyruvatdehydrogenase-Aktivität im Herzmuskel
 uU/mg Protein = uMol Acetyl-CoA.10⁻⁶/mg Protein/min

Glutathion

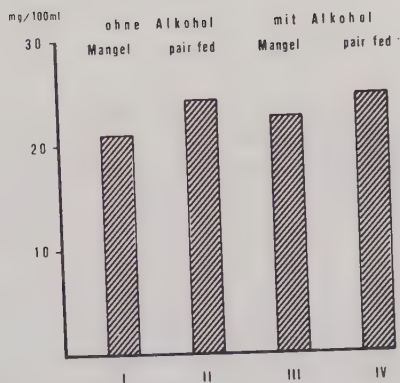


Abb. 27: Glutathiongehalt des Blutes

Hämoglobin

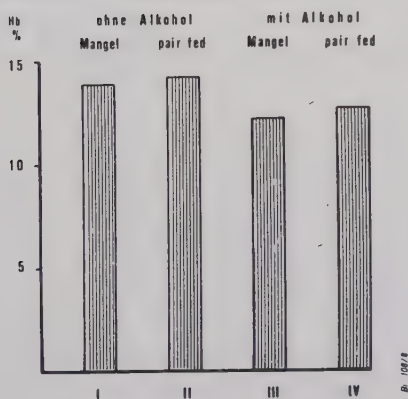


Abb. 28: Hämoglobingehalt des Blutes

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med.
H.D. C r e m e r für die Überlassung des Themas,
das stets entgegengebrachte Interesse und für die
mir an seinem Institut gebotene Arbeitsmöglichkeit
meinen herzlichen Dank aussprechen.

Frau Dr. I. B i t s c h gilt mein besonderer Dank
für die Betreuung der Arbeit und für die vielen
wertvollen Anregungen bei der Durchführung und
Fertigstellung dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich allen Damen und Herren des
Instituts für ihre stete und freundliche Hilfsbe-
reitschaft bei der Durchführung der Versuche.

Schließlich ist es mir eine angenehme Verpflichtung
dem Deutschen Akademischen Austauschdienst Dank
dafür zu sagen, daß er mir durch ein Stipendium
die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht hat.

LEBENS LAUF

- | | |
|---------------------------|---|
| 1. 7. 1944 | geboren in Schiraz/Iran |
| 1950 - 1956 | Besuch der Volksschule in Schiraz |
| 1956 - 1962 | Besuch des Gymnasiums in Schiraz |
| 1962 | Abitur (Naturwissenschaftlicher Zweig) |
| Mai 1964 bis
März 1965 | Besuch des Studienkollegs für ausländische Studierende in Darmstadt |
| Mai 1965 | Studium der Haushalts- und Ernährungswissenschaften in Giessen |
| März bis
August 1967 | Praktikum in der Küche des Schullandheims in Ober-Ostern (Odenwald) |
| Oktober 1969 | Diplomexamen in Fachrichtung Ernährungswissenschaften |
| Seit 1. 11. 1969 | Doktorandin am Institut für Ernährungswissenschaft I in Giessen |

FOTO-DRUCK LENZ • 63 Gießen • Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641 - 77449